

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

Ac

(11)Publication number : 2000-191538

(43)Date of publication of application : 11.07.2000

(51)Int.Cl.

A61K 31/7012  
 A61K 31/7028  
 A61P 9/00  
 A61P 29/00  
 A61P 43/00  
 A61K 31/715  
 C08B 37/00  
 // C07H 7/033  
 C07H 15/04

(21)Application number : 10-372864

(71)Applicant : MARUHA CORP

(22)Date of filing : 28.12.1998

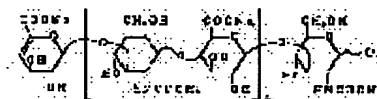
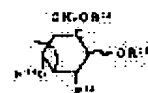
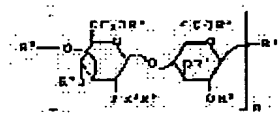
(72)Inventor : HACHITSUKA NOBUAKI  
 SATO NOBUYUKI  
 MORIYAMA SHIGERU  
 TAMAI TADAKAZU  
 NISHIKAWA MASAZUMI

## (54) SUPPRESSANT FOR LEUCOCYTE-VASCULAR ENDOTHELIAL CELL ADHESION

## (57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject suppressant useful as curing and preventing agents of diseases associated with crisis caused by adhesion of leucocytes to vascular endothelial cells by containing a compound containing a specific glucuronic acid derivative and a glucosamine derivative in its structure.

SOLUTION: This suppressant for adhesion of leucocytes to vascular endothelial cells contains a compound having a glucuronic acid derivative and a glucosamine derivative expressed by formula I [R1 is a protective group, OR10 [R10 is H, a protective group, formula II (R13 is an azide or the likes; and R12, R14 and R15 are each H, a protective group) or the likes], NHR11 (R11 is H or a protective group), CH2R11 or SR11, R2 to R8 are each H or a protective group; R9 is H, a protective group formula III (R31 to R34 are each H or a protective group) or the likes, and (n) is 0-25], (e.g. a compound expressed by formula IV) in its structure. The compound of formula I is obtained by a method, etc. for synthesizing and modifying an intermediate or the objective compound by an organic chemical means using a glucuronic acid derivative, a glucosamine derivative or the likes as a raw material. The dose is 0.01-100 mg/kg/day for adult in oral administration and 0.001-10 mg/kg/day for adult in parenteral administration.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-191538

(P2000-191538A)

(43) 公開日 平成12年7月11日 (2000. 7. 11)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード* (参考)	
A 6 1 K 31/7012		A 6 1 K 31/70	6 0 3	4 C 0 5 7
31/7028			6 0 7	4 C 0 8 6
A 6 1 P 9/00		31/00	6 0 9	4 C 0 9 0
29/00			6 2 9	
43/00			6 4 3 D	
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 13 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平10-372864

(22) 出願日 平成10年12月28日 (1998. 12. 28)

(71) 出願人 000003274

マルハ株式会社

東京都千代田区大手町 1 丁目 1 番 2 号

(72) 発明者 八塚 信明

茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会  
社中央研究所内

(72) 発明者 佐藤 信行

茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会  
社中央研究所内

(74) 代理人 100089705

弁理士 社本 一夫 (外 5 名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 白血球-血管内皮細胞接着抑制剤

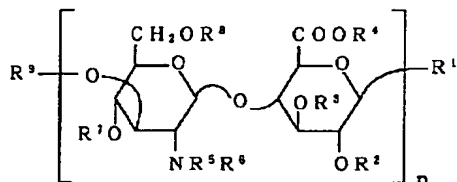
(57) 【要約】

【課題】優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制剤を提供する。

【解決手段】一般式(1)で表されるグルクロン酸誘導体およびグルコサミン誘導体を構造中に有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする白血球-内皮細胞接着抑制剤。

式(1)

【化1】

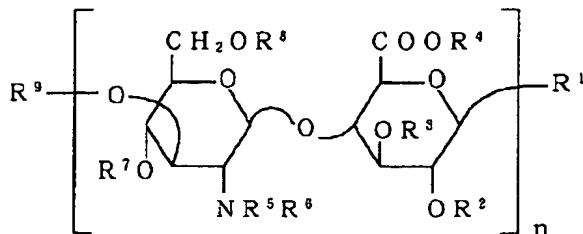


## 【特許請求の範囲】

【請求項1】下記一般式(1)で表されるグルクロン酸誘導体およびグルコサミン誘導体を構造中に有する化合物またはその薬理的に許容される塩を有効成分とする白血球-血管内皮細胞接着抑制剤。

式(1)

【化1】



〔式(1)中、R<sup>1</sup>は保護基または下記式(2)～(5)を表す。式(2)～(5)中、R<sup>10</sup>は水素原子、保護基または下記式(6)～(8)を表し、R<sup>11</sup>は水素原子または保護基を表す。ただし、R<sup>10</sup>およびR<sup>11</sup>が水素原子または保護基である場合、R<sup>1</sup>はCOOR<sup>4</sup>に対してトランス結合あるいはシス結合のどちらであってもよい。

式(2)

—OR<sup>10</sup>

式(3)

—NHR<sup>11</sup>

式(4)

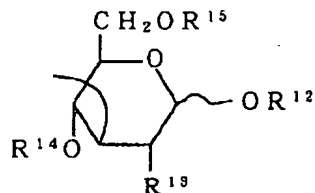
—CH<sub>2</sub>R<sup>11</sup>

式(5)

—SR<sup>11</sup>

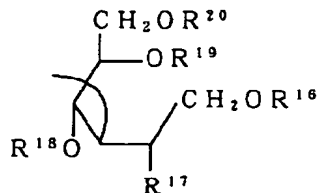
式(6)

【化2】



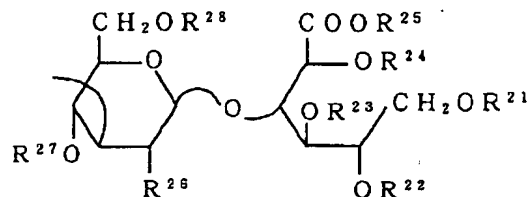
式(7)

【化3】



式(8)

【化4】



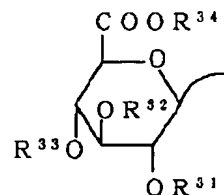
また、R<sup>10</sup>が式(6)～(8)である場合、式(6)～(8)中、R<sup>13</sup>、R<sup>17</sup>およびR<sup>26</sup>を除くR<sup>12</sup>～R<sup>28</sup>は同一または異なって水素原子または保護基を表し、R<sup>13</sup>、R<sup>17</sup>およびR<sup>26</sup>はアジド基または下記式(9)を表す。

式(9)

—NR<sup>29</sup>R<sup>30</sup>

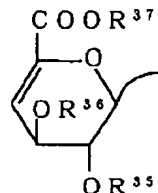
式(9)中、R<sup>29</sup>およびR<sup>30</sup>は、同一または異なって水素原子または保護基を表す。式(1)中、R<sup>2</sup>～R<sup>8</sup>は同一または異なって水素原子または保護基を表す。式(1)中、R<sup>9</sup>は、水素原子、保護基または下記式(10)または下記式(11)を表す。式(10)

【化5】



式(11)

【化6】



式(10)および(11)中、R<sup>31</sup>～R<sup>37</sup>は同一または異なって水素原子または保護基を表す。式(1)中、nは0～25の整数を表す。(ただし、nが0のときは、R<sup>1</sup>は式(2)、R<sup>10</sup>は式(8)で表される基であり、R<sup>9</sup>は式(10)または式(11)で表される基である。)

式(1)、式(6)～(8)および式(10)、(11)中、保護基は互いに同一または異なり、置換されていてもよい炭素原子数1～8の直鎖または分枝鎖のアルキル、置換されていてもよい炭素原子数2～8の直鎖または分枝鎖のアルケニル、置換されていてもよい炭素原子数1～8のアシル、置換されていてもよい芳香族アシル、または置換されていてもよい芳香族アルキルである。R<sup>13</sup>、R<sup>17</sup>およびR<sup>26</sup>を除くR<sup>2</sup>～R<sup>37</sup>の任意の保護基2つが一緒になって、置換されていてもよい炭素原子数3～8のアルキリデン、置換されていてもよい炭素原子数3～8の環状アルキリデン、置換されていてもよいベンジリデン、または、置換されていてもよいフタロイルを形成していてもよい。また、nが2以上の場合、R<sup>2</sup>～R<sup>8</sup>

は、繰り返し単位ごとに同一であっても異なってもよい。]

【請求項2】白血球と血管内皮細胞の接着が発症原因にかかわる疾患の治療薬または予防薬として使用する請求項1記載の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤。

【請求項3】炎症性疾患の治療薬または予防薬である請求項2記載の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤。

【請求項4】虚血再灌流傷害の治療薬または予防薬である請求項2記載の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、グルクロン酸誘導体およびグルコサミン誘導体を構造中に有する化合物を有効成分とする「白血球と血管内皮細胞の接着を抑制する薬剤」、すなわち、「白血球-血管内皮細胞接着抑制剤」に関する。

【0002】

【従来の技術】生理的あるいは病的過程で惹起される炎症では、顆粒球（好中球、好酸球、好塩基球）、リンパ球、単球などの白血球が組織内に浸潤し、ケミカルメディエーターを遊離・放出するとともに直接的な傷害機序によって病原微生物の排除や組織傷害に関与すると考えられている。血液中の白血球は血管内皮細胞に接着した後に細胞内に浸潤していくことが知られており、白血球と血管内皮細胞の接着は炎症を考えるうえで、きわめて重要な過程である。このため、白血球と血管内皮細胞の接着を抑制することによって各種の炎症性疾患、例えば、アトピー性皮膚炎、接触性過敏症、光線過敏症などの炎症性皮膚疾患の他、慢性関節リウマチ、慢性甲状腺炎などの自己免疫性の慢性疾患など、を治療しようとする試みがなされている（例えば、Todderud, G. et al.: J. Pharmacol. Exp. Therapeut., 282, 1298 (1997). を参照されたい）。しかし、白血球-血管内皮細胞接着抑制剤は実用化されておらず、優れた薬剤の開発が望まれている。

【0003】心筋梗塞、狭心症などの虚血性疾患の治療法として、虚血早期に不可逆的な細胞死に陥っていない疎血心筋領域の血流を再会させる再灌流療法（PTCR, PTC A）が広く施行されつつある。しかし、血流再開に伴い、かえって組織傷害が増幅される、いわゆる「虚血再灌流傷害」の発生が新たな問題点として提起されている。虚血再灌流傷害においても白血球の浸潤が内皮細胞の傷害に関与していることが知られており、白血球の接着を抑制することによって虚血再灌流傷害を抑制しようとする試みもなされている（例えば、特開平10-109998を参照されたい）。

【0004】本発明者らは、特願平10-120425号において一般式（1）の化合物が血小板粘着凝集抑制作用を有すること、さらに特願平10-273895号において一般式（1）の化合物が血管内皮細胞増殖促進作用を有することを示したが、白血球-血管内皮細胞接着抑制作用につ

いては開示していない。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】上記の記述から明らかに、優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制剤の提供は医療上の重要な課題である。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、かかる問題を解決するために鋭意研究を重ねてきた結果、一般式（1）に示される化合物またはその薬理学的に許容される塩が優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制作用を有することを見いだして本発明を完成するに至った。

【0007】すなわち、本発明は、一般式（1）で表されるグルクロン酸誘導体およびグルコサミン誘導体を構造中に有する化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分として含む白血球-血管内皮細胞接着抑制剤を提供する。

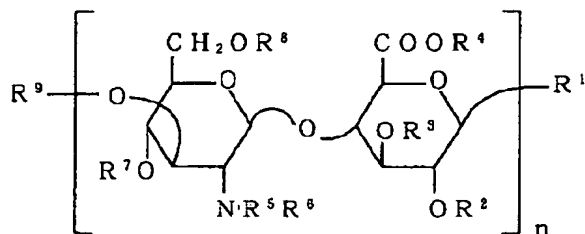
【0008】本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤は、白血球と血管内皮細胞の接着が発症原因にかかわる疾患の治療薬または予防薬として有用である。

【0009】

【発明の実施の形態】〔本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤に使用する化合物〕本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤に使用する化合物は、下記一般式（1）で表されるグルクロン酸誘導体およびグルコサミン誘導体を構造中に有する化合物またはその薬理学的に許容される塩である。

【0010】式（1）

【化7】



〔式（1）中、R<sup>1</sup>は保護基または下記式（2）～（5）を表す。式（2）～（5）中、R<sup>10</sup>は水素原子、保護基または下記式（6）～（8）を表し、R<sup>11</sup>は水素原子または保護基を表す。ただし、R<sup>10</sup>およびR<sup>11</sup>が水素原子または保護基である場合、R<sup>1</sup>はCOOR<sup>4</sup>に対してトランス結合あるいはシス結合のどちらであってもよい。〕

【0011】式（2）

—OR<sup>10</sup>

式（3）

—NHR<sup>11</sup>

式（4）

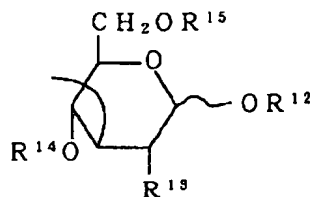
—CH<sub>2</sub>R<sup>11</sup>

式（5）

—SR<sup>11</sup>

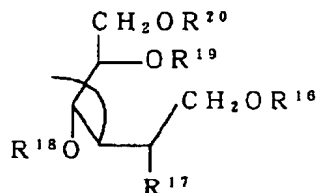
式（6）

【化8】



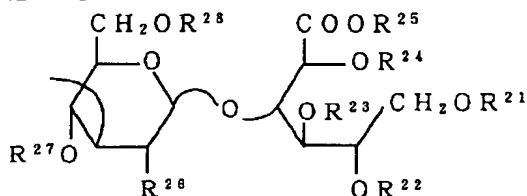
式(7)

【化9】



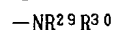
式(8)

【化10】



また、 $R^{10}$ が式(6)～(8)である場合、式(6)～(8)中、 $R^{13}$ 、 $R^{17}$ および $R^{26}$ を除く $R^{12}$ ～ $R^{28}$ は同一または異なって水素原子または保護基を表し、 $R^{13}$ 、 $R^{17}$ および $R^{26}$ はアジド基または下記式(9)を表す。

【0012】式(9)



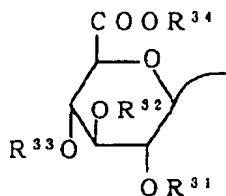
式(9)中、 $R^{29}$ および $R^{30}$ は、同一または異なって水素原子または保護基を表す。

【0013】式(1)中、 $R^2$ ～ $R^8$ は同一または異なって水素原子または保護基を表す。

【0014】式(1)中、 $R^9$ は、水素原子、保護基または下記式(10)または下記式(11)を表す。

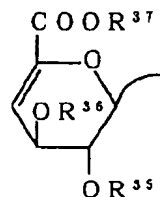
【0015】式(10)

【化11】



式(11)

【化12】



式(10)および(11)中、 $R^{31}$ ～ $R^{37}$ は同一または異なって水素原子または保護基を表す。

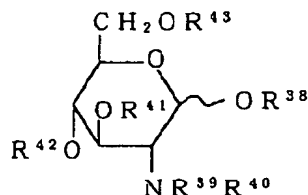
【0016】式(1)中、 $n$ は0～25の整数を表す。  
(ただし、 $n$ が0のときは、 $R^1$ は式(2)、 $R^{10}$ は式(8)で表される基であり、 $R^9$ は式(10)または式(11)で表される基である。)

式(1)、式(6)～(8)および式(10)、(11)中、保護基は互いに同一または異なり、置換されていてもよい炭素原子数1～8の直鎖または分枝鎖のアルキル、置換されていてもよい炭素原子数2～8の直鎖または分枝鎖のアルケニル、置換されていてもよい炭素原子数1～8のアシル、置換されていてもよい芳香族アシル、または置換されていてもよい芳香族アルキルである。 $R^{13}$ 、 $R^{17}$ および $R^{26}$ を除く $R^2$ ～ $R^{37}$ の任意の保護基2つが一緒になって、置換されていてもよい炭素原子数3～8のアルキリデン、置換されていてもよい炭素原子数3～8の環状アルキリデン、置換されていてもよいベンジリデン、または、置換されていてもよいフタロイルを形成していてもよい。また、 $n$ が2以上の場合、 $R^2$ ～ $R^8$ は、繰り返し単位ごとに同一であっても異なってもよい。]

すなわち、本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤に有効成分として含まれる式(1)の化合物は、下記式(12)で表されるD-グルコサミン誘導体と式(13)で表されるD-グルクロン酸誘導体が結合した構造を有する。

【0017】式(12)

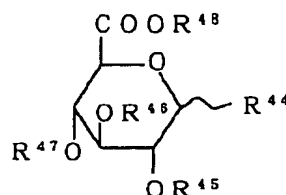
【化13】



[式(12)中、 $R^{38}$ ～ $R^{43}$ は水素原子または保護基を表す。]

式(13)

【化14】



[式(13)中、 $R^{44}$ は水酸基または保護基を表し、 $R^{45}$ ～

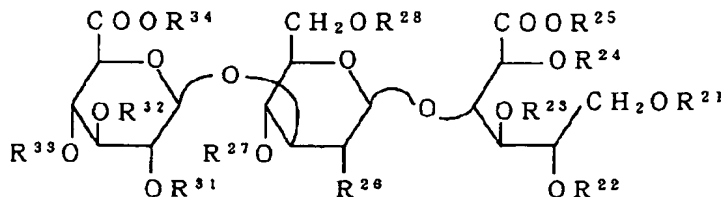
$R^{18}$ は水素原子または保護基を表す。]

式(1)において、 $n$ は0~25の整数を表すが、 $n$ が0のとき $R^1$ は式(8)で表される基であり、 $R^9$ は式(10)または(11)で表される基である。すなわち、式(1)

の化合物は下記式(14)または(15)で表される化合物である。

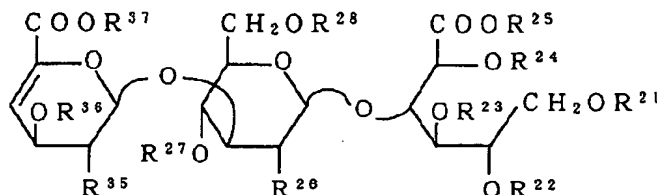
【0018】式(14)

【化15】



式(15)

【化16】



本発明でいう保護基とは、Theodora W. Green著の“Productive Groups in Organic synthesis”；第2版；1991年刊に表されている各種の保護基を含むものである。

【0019】上記式(1)~(11)中で示される保護基は置換されていてもよい炭素原子数1~8の直鎖または分枝鎖のアルキルとしては例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、第三級ブチル、ペンチル、オクチル、メトキシメチル、第三級ブチルチオメチル、1-エトキシエチル、シロキシメチルまたは2-メトキシエトキシメチルなどを表し、置換されていてもよい炭素原子数2~8の直鎖または分枝鎖のアルケニルとしては、例えば、エテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、ブテニルまたはオクテニルなどを表し、置換されていてもよい1~8の直鎖または分枝鎖のアシルとしては、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、バレリルまたはピバロイル、またはハロゲン化アシルなどを表し、ハロゲン化アシルとしては例えば、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロアセチル、トリフルオロアセチルなどを表し、置換されていてもよい芳香族アシルとしては例えば、ベンゾイル、パラクロベンゾイルなどを表し、置換されていてもよい芳香族アルキルとしては、例えば置換されていてもよいベンジル、置換されていてもよいジフェニルメチル、または、置換されていてもよいトリフェニルメチルなどを表し、置換されていてもよいベンジルとしては、例えば4-メトキシベンジルなどを表す。さらに、式(1)~(11)中で示される保護基は、 $R^{13}$ 、 $R^{17}$ および $R^{26}$ を除く $R^2$ ~ $R^{37}$ の任意の保護基2つが一緒になって、1つの保護基を表してもよく、すなわち保護基は、置換されていてもよい炭素原子数3~8のアルキリデンとしては、例えば、プロピリデン、ブチリデンまたはオクチリデンなどを表し、置換

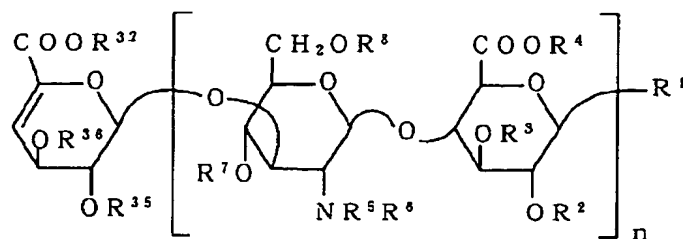
されていてもよい炭素原子数3~8の環状アルキリデンとしては例えば、シクロペンチリデン、シクロヘキシリデンまたはシクロヘプチリデンなどを表し、さらに、置換されていてもよいベンジリデンまたは置換されていてもよいフタロイルなどを表す。水酸基の保護基としては、置換されていてもよい炭素原子数1~8の直鎖または分枝鎖のアシル、置換されていてもよい芳香族アルキル、置換されていてもよい炭素原子数2以上の直鎖または分枝鎖のアルケニルまたは置換されていてもよいベンジリデンなどが好ましく、さらに好ましくは、アセチル、ベンジル、1-プロペニルまたはベンジリデンなどを表し、アミノ基の保護基としては、置換されていてもよい炭素原子数1~8の直鎖または分枝鎖のアシルまたは置換されていてもよいフタロイルなどが好ましく、さらに好ましくは、アセチルまたはフタロイルなどを表し、カルボキシル基の保護基としては、置換されていてもよい炭素原子数1~8の直鎖または分枝鎖のアルキルまたは置換されていてもよい芳香族アルキルなどが好ましく、さらに好ましくは、メトキシル、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ペンチル、イソペンチルまたはジフェニルメチルなどを表す。上記の保護基は、同一の化合物中で互いに同一でも異なってもよく、任意に選ばれる。

【0020】式(1)中の $n$ は0~25の整数であり、好ましくは0~10、特にこのましくは0~5、さらに好ましくは0~2である。

【0021】 $R^9$ は上記の記載に合致するものであればよいが、特に、前記式(11)であること、すなわち、式(1)の化合物が下記式(16)であることが好ましい。

【0022】式(16)

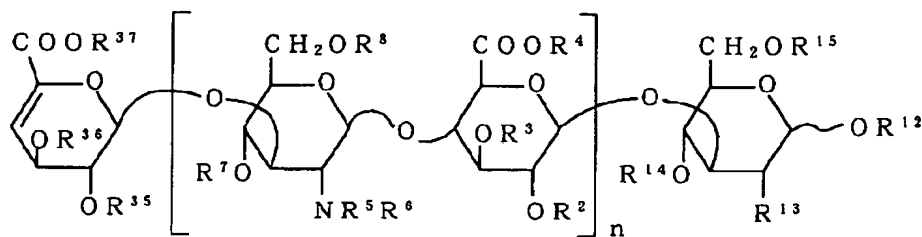
【化17】



さらにこのとき、式(11)において、 $R^1$ が前記式(6)～(8)であること、すなわち、下記式(17)～(19)であることがより好ましい。

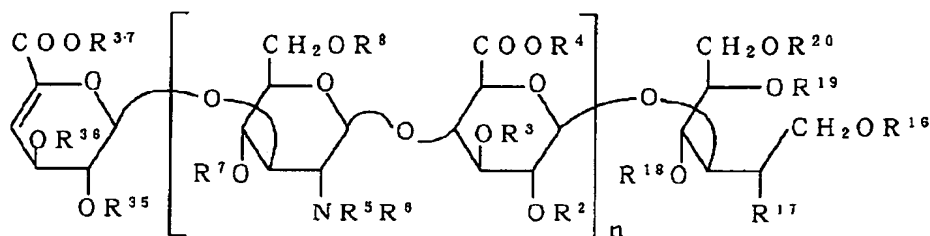
【0023】式(17)

【化18】



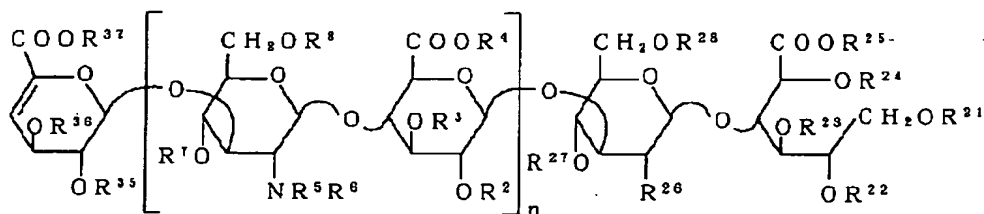
式(18)

【化19】



式(19)

【化20】



また、さらに前記式(17)～(19)において、 $R^{13}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{26}$ が前記式(9)であることが特に好ましい。

【0024】本発明における薬理的に許容される塩とは、式(1)の化合物を治療に必要な量を投与する場合に、生体に対して悪影響を及ぼさない、あるいは、式(1)の化合物の有効な薬理的な性質を塩としたことで損なわない塩であることを意味する。具体例としては、ナトリウム塩、カリウム塩またはカルシウム塩などのアルカリ金属またはアルカリ土類金属の塩；フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩などのハロゲン化水素酸塩；メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩などの低級アルキルスルホン酸塩；ベンゼンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩などのアリルスルホン酸塩；フマル酸塩、コハク酸、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩などの有機酸塩；およびグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩などのアミノ酸塩をあげることができ

る。またさらに式(1)の化合物およびその塩は、薬理的に許容される各種の溶媒、例えば水、有機溶媒、緩衝液などとの溶媒和物や結晶多形のものなども含まれる。

【0025】式(1)の化合物は置換基の種類によって不斉炭素原子を有し、不斉中心の存在に基づく光学異性体が存在する場合がある。本発明の化合物には、各々の異性体、および、それらの混合物のすべてが含まれる。例えば、ある光学異性体とその鏡像異性体（エナンチオマー）との混合物、特に、等量混合物であるラセミ体、また、あるいは、ある光学異性体とそのジアステレオマーとの混合物も含まれる。

【0026】〔式(1)の化合物の製造法〕当然のことであるが、本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤に使用する化合物は種々の方法によって得ることができる。例えば、グルクロン酸誘導体やグルコサミン誘導体などを原料にして有機化学的手法によって中間体あるいは

は目的化合物を合成・修飾する方法や多糖などを酸やアルカリなどを用いて分解して中間体あるいは目的化合物を得る方法などの有機化学的手法、グルクロン酸やN-アセチルグルコサミンなどを原料にして転移酵素や分解酵素の逆反応などを利用して中間体あるいは目的化合物を合成・修飾する方法や多糖などを酵素を用いて分解して中間体あるいは目的化合物を得る方法などの生化学的手法、あるいは、微生物や細胞に酵素の遺伝子を導入して原料、中間体あるいは目的化合物、または合成・修飾に用いる酵素を得るなどの遺伝子工学的手法などを、単独あるいは組み合わせる方法を用いることができる。

【0027】式(1)の化合物の好ましい製造法は前記の特願平10-120425号に詳しく記載されている。

【0028】[本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤、および、その投与方法、投与量および剤形]本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤は、式(1)の化合物、その薬理学的に許容される塩の少なくともひとつを有効成分として含む。

【0029】本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤は、通常、全身的または局所的に、経口的または非経口的に投与される。投与量は、疾患の種類、症状の程度、投与対象の年齢や体重などの条件をもとに総合的に判断し、最適量を適宜決定するべきであり、特に限定されない。しかし、通常、本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤に有効成分として含まれる式(1)の化合物量として、成人では1日当たり経口投与の場合0.01~100mg/kg、非経口投与の場合0.001~10mg/kgである。投与は必要に応じて1日1回ないし複数回に分けて行われる。

【0030】本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤の投与は、固体組成物、液体組成物およびその他の組成物の経口投与、注射剤、外用剤、坐剤などの非経口投与のいずれの形態であってもよく、必要に応じて最適な方法が選択される。本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤は、式(1)の化合物およびその薬理学的に許容される塩の少なくともひとつを有効成分として含有し、これに通常の製剤化に用いられる担体、賦形剤、その他の添加剤を加えて当業者に公知の方法で調製することができる。製剤用の担体や賦形剤としては、例えば、乳糖、ステアリン酸マグネシウム、デンプン、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、オリーブ油、ゴマ油、カカオバター、エチレングリコールなどやその他常用されるものをあげることができる。

【0031】経口投与のための固体組成物としては、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤などが用いられる。このような固体組成物においては、少なくともひとつの活性物質(有効成分)が少なくともひとつの不活性な希釈剤、例えば、乳糖、マンニトール、ブドウ糖、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶性セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミン酸

マグネシウムなどと混合される。組成物は、常法にしたがって不活性な希釈剤以外の添加物、例えば、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、繊維素グリコール酸カルシウムのような崩壊剤、グルタミン酸またはアスパラギン酸のような溶解補助剤を含んでいてもよい。錠剤または丸剤は、必要によりショ糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレートなどの糖衣や胃溶性または腸溶性物質のフィルムで被覆してもよいし、2つ以上の層で被覆してもよい。さらに、ゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも含まれる。

【0032】経口投与のための液体組成物は、薬剂的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤などを含み、一般的に用いられる不活性な希釈剤、例えば精製水、エタノールなどを含んでいてもよい。この組成物は、不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤などを含んでいてもよい。

【0033】非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤が含まれる。水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば、注射用水および注射用生理食塩液が含まれる。非水性の溶液剤、懸濁剤としては、例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート80(登録商標)などが含まれる。このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤(例えば、乳糖)、溶解補助剤(例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸)のような補助剤を含んでいてもよい。これらは、例えば、精密ろ過膜によるろ過滅菌、高圧蒸気滅菌のような加熱滅菌、あるいは、殺菌剤の配合などの通常の滅菌方法によって無菌化することが可能である。これらはまた無菌の固体組成物を製造し、使用前に無菌水または無菌の注射用溶媒に溶解して使用することもできる。

【0034】非経口投与のためのその他の医薬組成物として本発明の白血球-血管内皮細胞接着抑制剤としては、式(1)の化合物の少なくともひとつを有効成分として含み、常法によって処方される外用液剤、軟膏剤、塗布剤、坐剤、経皮剤、点眼剤などが含まれる。

【0035】[式(1)の化合物の白血球-血管内皮細胞接着抑制作用および白血球遊走抑制作用]式(1)の化合物の白血球-血管内皮細胞接着抑制作用および白血球遊走抑制作用を、ラット腹腔浸潤好中球、ヒト臍帯静脈内皮細胞、ウシ大動脈内皮細胞を用いて評価した。その結果、式(1)の化合物はいずれも優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制作用および白血球遊走抑制作用を示した。

【0036】

【発明の効果】式(1)の化合物およびその薬理学的に許容される塩は、優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制作用を有し、白血球と血管内皮細胞との接着が関与する



疾患の治療薬または予防薬として有用である。具体的には、炎症性疾患（アレルギーなどを含む広義の炎症性疾患）、あるいは、虚血再灌流傷害の治療薬または予防薬として有用である。

【0037】具体的には、アトピー性皮膚炎、接触性過敏症、光線過敏症、などの炎症性皮膚炎、慢性関節リウマチ、慢性甲状腺炎などの自己免疫性の慢性疾患、再灌流法（PTCA、PTCR）後の虚血再灌流傷害、などの治療に対して有効である。

【0038】

【実施例】以下の実施例において、化合物製造例、白血球-血管内皮細胞接着抑制作用試験例、白血球遊走抑制作用試験例、毒性試験例および製剤製造例をあげて本発明をさら詳しく説明する。なお、当然のことではあるが、本発明は以下の実施例に記載された物質および処方に限定されるものではなく、特許の請求の範囲に含まれるすべての物質および処方を含むものである。

【0039】実施例1：化合物製造例1

4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [  $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc (化合物例1) ]、4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [  $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc (化合物例2) ]、4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [  $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc (化合物例3) ] および4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-O- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-O-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [  $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc (化合物例4) ] の製造

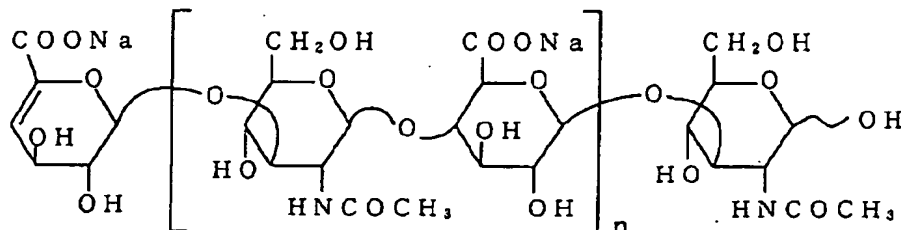
ヒアルロン酸ナトリウム（紀文フードケミファ製；商品名「ヒアルロン酸FCH」）30gを蒸留水3Lに溶解し、40℃となるように加温した。0.1M水酸化ナトリウム水溶液で溶液のpHを6.0に調整した後、Streptomyces hyalurolyticus由来のヒアルロニダーゼ（天野製薬製；商品名「ヒアルロニダーゼ“アマノ”」）をヒアルロン酸ナトリウム1mgあたり0.5濁度減少単位となるように添加し、40℃で100時間反応を行った。反応後、公称分画分子量10kの親水性ポリエーテルスルホン製の限外ろ過（ミリポア製）によって溶液中から酵素を除去した。凍結乾燥することによって溶媒を除去し、分解物（27.4g）を得た。

【0040】分解物を陰イオン交換クロマトグラフ法（カラム：YMC-Pack IEC-AX，溶離液：A；水，B；0.4M NaCl；リニアグラジェント（30分），検出：UV(232nm)）によって分画し（化合物例1、2、3、4の順に溶出）、化合物例1～4を含む画分を得た。各画分をゲルろ過法（担体：セファデックスG-10，溶離液：水）によって脱塩後、凍結乾燥して化合物例1～4（白色粉末）を得た。収量は、それぞれ、化合物例1：1.7g，化合物例2：5.9g，化合物例3：3.4g，化合物例4：2.2gであった。各化合物はナトリウム塩として得られた。

【0041】化合物例1～4は式（20）で表される化合物である。式（20）において、nは1～4の整数を示し、nが1のとき化合物例1、2のとき化合物例2、3のとき化合物例3、4のとき化合物例4を示す。

【0042】式（20）

【化21】



高速液体クロマトグラフ法（カラム：TSKgel DEAE-5PW，

溶離液：A；水，B；0.3MNaCl；リニアグラジェント（20

分), 検出:UV(232nm);面積百分率法)によって測定した各化合物の純度は97%以上であった。各化合物のウロン酸含量をグルクロノラクトンを標準品としてBitterとMuirの方法(Bitter,T.,Muir,H.:Anal.Biochem.,4,330(1962).)によって、ヘキササミン含量を3N塩酸中100℃で16時間加水分解後 グルコサミン塩酸塩を標準品としてBoasの方法(ただし、樹脂処理なし;Boas,N.,F.:J.Biol.Chem.,204,553(1953).)によって分析したところ、各化合物の分析値はほぼ理論値通りであった。

#### 【0043】実施例2:化合物製造例2

4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc(化合物例1)], 4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノース [ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc(化合物例2)]の製造

ヒアルロン酸ナトリウム(紀文フードケミファ製;商品名「ヒアルロン酸FCH」)60gを蒸留水3Lに溶解し、40℃となるように加温した。0.1M水酸化ナトリウム水溶液で溶液のpHを6.0に調整した後、Streptomyces hyalurolyticus由来のヒアルロニダーゼ(天野製薬製;商品名「ヒアルロニダーゼ“アマノ”」)をヒアルロン酸ナトリウム1mgあたり1濁度減少単位となるように添加し、40℃で100時間反応を行った。反応後、公称分画分子量10kの親水性ポリエーテルスルホン製の限外ろ過(ミリポア製)によって溶液中から酵素を除去した。凍結乾燥することによって溶媒を除去し、分解物(53.7g)を得た。

【0044】分解物を陰イオン交換クロマトグラフ法(カラム:TSKgel DEAE-5PW, 溶離液:A:水,B:0.5M 酢酸ナトリウム水溶液;リニアグラジェント(A/B(90/10) $\rightarrow$ A/B(60/40);40分), 検出:UV(232nm))によって分画し(化合物例1、2の順に溶出)、化合物例1および2を含む画分を得た。各画分から凍結乾燥することによって水を除去した。凍結乾燥した各画分をエタノールで洗

浄して塩を除去し、化合物例1、2(白色粉末)を得た。収量は、それぞれ、化合物例1:18.1g,化合物例2:29.5gであった。各化合物はナトリウム塩として得られた。

【0045】高速液体クロマトグラフ法(カラム:TSKgel 1 Amide-80, 溶離液:アセトニトリル/水/酢酸/トリエチルアミン(65/35/2/1,v/v), 流速:1.0mL/分, カラム温度:80℃, 検出:UV(232nm);面積百分率法)によって測定した各化合物の純度は97%以上であった。ウロン酸含量とヘキササミン含量を実施例1に示した方法によって分析したところ、値はほぼ理論値通りであった。

#### 【0046】実施例3:化合物製造例3

4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラニトール [ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAcOH(化合物例5)], 4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラニトール [ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAcOH(化合物例6)]の製造

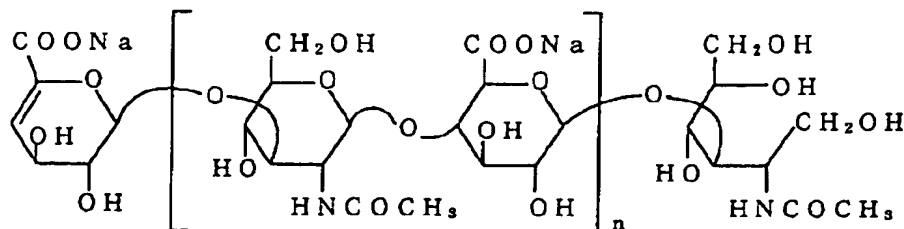
50mgの化合物例1を50mLの3mg/mL水素化ホウ素ナトリウム水溶液に溶解し、室温で1時間処理した。5mLの6M酢酸を加えて反応を停止し、50mLのメタノールを加えた後、エバポレーターを用いて乾固した。さらに、50mLのメタノールの添加および乾固を2回繰り返した。乾固によって残った固形物を5mLの水に溶解し、実施例1と同様にゲルろ過法によって脱塩後、凍結乾燥して化合物例5(白色粉末;44.7mg)を得た。

【0047】同様の方法で化合物例2を原料として用いて化合物例6を得た。

【0048】化合物例5および6は式(21)で表される化合物である。式(21)において、nは1~2の整数を示し、nが1のとき化合物例5、2のとき化合物例6を示す。

【0049】式(21)

【化22】

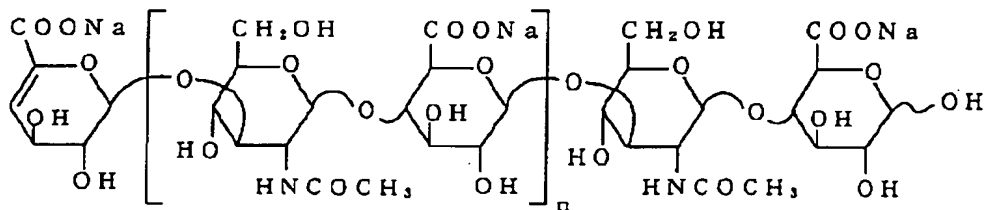


化合物例5および6の純度を実施例2に示した方法によって測定したところ、98%以上であった。ウロン酸含量とヘキサミン含量を実施例1に示した方法によって分析したところ、分析値はほぼ理論値通りであった。

【0050】実施例4：化合物製造例4

4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピラノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロン酸

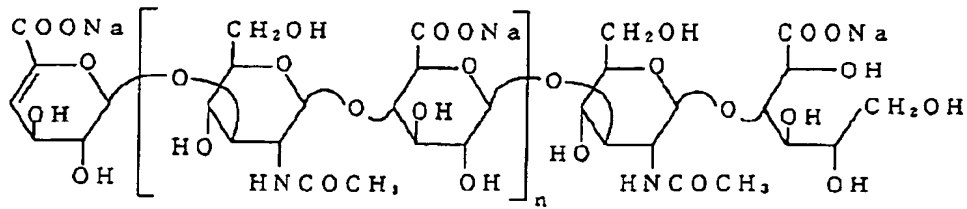
[ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA (化合物例7)]、4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピランノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピランノシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロン酸 [ $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcA (化合物例8)] の製造



化合物例7および8の純度を実施例2に示した方法によって測定したところ、98%以上であった。ウロン酸含量とヘキサミン含量を実施例1に示した方法によって分析したところ、値はほぼ理論値通りであった。

【0054】 实施例5：化合物製造例5

4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピランシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロニトール [  $\Delta$ HexA $\beta$ 1 $\rightarrow$ 3GlcNAc $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4GlcAOH (化合物例9) ]、4-デオキシ- $\alpha$ -L-スレオ-ヘキサ-4-エンピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピランシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロノシル-(1 $\rightarrow$ 3)-0-2-アセトアミド-2-デオキシ- $\beta$ -D-グルコピランシル-(1 $\rightarrow$ 4)-3-0- $\beta$ -D-グルコピランウロ



化合物例9および10の純度を実施例2に示した方法によって測定したところ、98%以上であった。ウロン酸含量とヘキサミン含量を実施例1に示した方法によって分析したところ、値はほぼ理論値通りであった。

【0058】実施例6：式（1）の化合物の白血球-血管内皮細胞接着抑制作用1

Sprague-Dawley (SD) 系雄性ラット (SPF; 9 週齢) か

化合物例1をReissigらの方法(Reissig, J., L., Strominger, J. L., Leloir, L., F.: J. Biol. Chem., 217, 959(1953).)に準じてpH9のホウ酸緩衝液中で加熱した。反応液中のホウ酸を実施例3と同様にホウ酸メチルとして除去し、実施例1と同様にゲルろ過法によって脱塩後、凍結乾燥して化合物例7(白色粉末)を得た。50mgの化合物例1を原料としたとき、43.1mgの化合物例7を得た。

【0051】同様に、50mgの化合物例2を原料としたとき、44.8mgの化合物例8（白色粉末）を得た。

【0052】化合物例7および8は式(22)で表される化合物である。式(22)において、nは0～1の整数を示し、nが0のとき化合物例7、1のとき化合物例8を表す。

【0053】式(22)

【化23】

ニトール [  $\Delta\text{HexA}\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcA}\beta 1 \rightarrow 3\text{GlcNAc}\beta 1 \rightarrow 4\text{GlcAOH}$  (化合物例10) ] の製造

化合物例7を実施例3と同様の方法で処理して化合物例9（白色粉末）を得た。20mgの化合物例7を原料としたとき、15.9mgの化合物例9を得た。

【0055】同様に、20mgの化合物例8を原料としたとき、17.8mgの化合物例10（白色粉末）を得た。

【0056】化合物例9および10は式(23)で表される化合物である。式(23)において、nは0～1の整数を示し、nが0のとき化合物例9、1のとき化合物例10を表す。

【0057】式(23)

【化24】

ら腹腔浸潤好中球を調製し、2,7-bis(carboxyethyl)carboxyfluorescent tetra acetoxymethyl ester (BCECF-AM) によって標識した(標識好中球)。PRMI 1640培地を用いて標識好中球浮遊液を調製した( $5.8 \times 10^7$  個/ml)。

【0059】ヒト臍帯静脈内皮細胞を $2.5 \times 10^5$ 個/ウェルとなるように24ウェルマイクロプレートに播種し、37

℃, 5%CO<sub>2</sub>で一晩培養した。試験前に各ウェルをRPMI1640培地500μL/ウェルで2回洗浄し、非付着細胞を除去した。

【0060】各化合物(終濃度10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-8</sup>M)を含むRPMI1640培地500μLをウェルに添加し、直ちに標識好中球浮遊液500μLを添加してよく分散させた。37℃, 5%CO<sub>2</sub>で30分間静置した後、培地ごと非接着の好中球を除いた。次に、各ウェルRPMI1640培地500μL/ウェルで2回洗浄し、非接着の好中球を除いた。各ウェルに2mLの1%NP-40を含むPBS(Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> 不含; pH7.4)を添加し、接着した標識好中球を内皮細胞とともに溶解して溶解液を得た。蛍光分光光度計を用いて、励起波長500nm, 蛍光波長530nmにおける溶解液の蛍光強度を測定した。

【0061】化合物を含まないRPMI1640培地を用いて同様に操作、測定を行い、対照試験とした。

【0062】あらかじめ作成しておいた検量線を用いて溶解液の蛍光強度から血管内皮細胞に接着した好中球の数(個/mL; 接着好中球数)を算出した。さらに、下記式によって、各化合物の好中球と血管内皮細胞の接着を抑制する作用の強さ(接着抑制率)を算出した。

【0063】接着抑制率(%) = (対照試験の接着好中球数 - 化合物添加試験の接着好中球数) / (対照試験の接着好中球数) × 100

結果を表1に示した。

【0064】

【表1】

化合物例	接着抑制率(%)		
	培地中の化合物例の濃度 (M)		
	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>
1	39.5	27.2	17.6
2	40.2	39.0	25.9
3	54.0	33.8	29.0
4	64.8	58.0	12.2
5	55.1	39.2	21.5
6	60.8	42.1	19.8
7	49.9	51.1	22.5
8	62.1	39.8	27.8
9	57.2	41.0	17.2
10	55.5	46.8	18.8

【0065】表1に示されたように、化合物例1~10は白血球(好中球)と血管内皮細胞の接着を有意に抑制し、優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制作用を示した。

【0066】実施例7: 式(1)の化合物の白血球-血管内皮細胞接着抑制作用2および白血球遊走抑制作用実施例6と同様の方法により、標識好中球浮遊液を調製した。

【0067】ウシ大動脈内皮細胞を1×10<sup>5</sup>細胞/cm<sup>2</sup>となるように、ケモタキセル(商品名; クラボウ製; 24ウェル; 膜孔径: 3μm)のトランスウェル上室に蒔種し、37℃, 5%CO<sub>2</sub>で一晩培養した。試験前に培地を0.1%BSA(ウシ血清アルブミン; 脂肪酸不含)-RPMI1640培地に置き換えることで、培地中の血清を除去した。

【0068】各ウェル下室に各化合物(終濃度10<sup>-4</sup>, 10<sup>-6</sup>, 10<sup>-8</sup>M)を含むBSA0.1%-RPMI1640培地0.5mLを、上室に標識好中球浮遊液(BSA0.1%-RPMI1640培地に浮遊; 7×10<sup>6</sup>細胞/mL)0.3mLを加え、37℃, 5%CO<sub>2</sub>で80分間培養した。上室を取り出し、非接着好中球をPBSで洗浄除去した後、接着好中球を内皮細胞とともに1%NP-40溶液2mLに溶解し、溶解液1(接着好中球溶解液)

を得た。また、下室の培地を遠心分離して下室に遊走した好中球を回収し、1%NP-40溶液2mLに溶解して溶解液2(遊走好中球溶解液)を得た。蛍光分光光度計を用いて、励起波長500nm, 蛍光波長530nmにおける溶解液1, 2の蛍光強度を測定した。

【0069】化合物を含まないRPMI1640培地を用いて同様に操作、測定を行い、対照試験とした。

【0070】あらかじめ作成しておいた検量線を用いて、溶解液の蛍光強度から各溶解液中の好中球の数(個/mL; 接着好中球数あるいは遊走好中球数)を算出した。さらに、実施例6に記載の式によって、各化合物の、好中球と血管内皮細胞の接着を抑制する作用の強さ(接着抑制率)を算出し、また下式によって、各化合物の、好中球の遊走を抑制する作用の強さ遊走(抑制率)、を算出した。

【0071】遊走抑制率(%) = (対照試験の遊走好中球数 - 化合物添加試験の遊走好中球数) / (対照試験の遊走好中球数) × 100

接着抑制率の算出結果を表2、遊走抑制率の算出結果を表3に示した。

【0072】

【表2】

化合物例	表 2		
	接着抑制率 (%)		
	培地中の化合物例の濃度 (M)		
	$10^{-8}$	$10^{-6}$	$10^{-4}$
1	38.2	34.1	45.8
2	19.4	37.9	45.1
3	21.6	25.1	59.1
4	0.0	9.1	39.5
5	54.1	64.1	57.1
6	38.1	34.9	45.4
7	19.4	37.9	45.1
8	0.5	19.1	39.5
9	21.6	25.1	59.1
10	45.3	49.2	55.0

【0073】

【表3】

化合物例	表 3		
	遊走抑制率 (%)		
	培地中の化合物例の濃度 (M)		
	$10^{-8}$	$10^{-6}$	$10^{-4}$
1	25.2	27.1	15.8
2	19.4	20.9	30.1
3	22.6	20.1	19.1
4	20.0	9.1	29.5
5	58.1	63.1	59.1
6	38.1	34.9	45.4
7	19.4	47.9	55.1
8	0.9	17.1	39.9
9	11.6	25.1	59.8
10	43.3	48.2	65.0

【0074】表2に示されたように、化合物例1～10は白血球（好中球）と血管内皮細胞の接着を有意に抑制し、優れた白血球-血管内皮細胞接着抑制作用を示した。また、表3に示されたように、化合物例1～10は白血球（好中球）の遊走を有意に抑制し、優れた白血球遊走抑制作用を示した。

【0075】実施例8：本発明の化合物の急性毒性  
本発明の化合物の代表例（化合物例1～10）について、ラット（体重300～400g，Wistar系，オス）を用いて急性毒性試験を行ってところ、LD<sub>50</sub>は500mg/kg以上であった。

【0076】実施例9：錠剤製造例

#### 錠剤の製造1

化合物例1	10g
ポリエチレングリコール6000	10g
ラウリル硫酸ナトリウム	1.5g
トウモロコシデンプン	3g
乳糖	25g
ステアリン酸マグネシウム	0.5g

上記成分を秤量する。ポリエチレングリコール6000を70～80℃に加熱し、そこに化合物例1、ラウリル硫酸ナトリウム、トウモロコシデンプンおよび乳糖を混合した後、冷却する。固化した混合物を粉碎器にかけ造粒し、顆粒を得る。顆粒をステアリン酸マグネシウムと混合後、圧縮打錠して重量250mgの錠剤とする。

#### 【0077】錠剤の製造2

化合物例2	30g
乳糖	55g
ジャガイモデンプン	12g
ポリビニルアルコール	1.5g
ステアリン酸マグネシウム	1.5g

上記の成分を秤量する。化合物例2、乳糖、ジャガイモデンプンを均一に混合する。混合物にポリビニルアルコールの水溶液を加え、湿式顆粒造粒法により顆粒を調製する。顆粒を乾燥し、ステアリン酸マグネシウムを混合後、圧縮打錠して重量200mgの錠剤とする。

#### 【0078】カプセル剤の製造

化合物例3	10g
-------	-----

乳糖 25 g  
 トウモロコシデンプン 5 g  
 微結晶セルロース 9.5 g  
 ステアリン酸マグネシウム 0.5 g  
 上記の成分を秤量する。ステアリン酸マグネシウム以外の4成分を均一に混合する。ステアリン酸マグネシウムを加えた後、さらに数分間混合する。混合物をNo. 1のハードカプセルに200mgずつ充填し、カプセル剤とする。

【0079】散剤の製造

化合物例4 20 g  
 乳糖 79 g  
 ステアリン酸マグネシウム 1 g  
 上記成分を秤量する。すべての成分を均一に混合して20

%散剤とする。

【0080】坐剤の製造

化合物例2 10 g  
 ポリエチレングリコール1500 18 g  
 ポリエチレングリコール4000 72 g  
 化合物例2を乳鉢でよく研磨して微細な粉末とした後、熔融法によって1 gの直腸坐剤とする。

【0081】注射剤の製造

化合物例6 0.1 g  
 塩化ナトリウム 0.9 g  
 水酸化ナトリウム 適量  
 上記成分を秤量する。3成分を注射用水に溶解、ろ過滅菌後、10mLアンプルに5 mLずつ分注し、熔封して注射剤とする。

フロントページの続き

(51)Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト (参考)
A 6 1 K 31/715		A 6 1 K 31/73	
C 0 8 B 37/00		C 0 8 B 37/00	Z
// C 0 7 H 7/033		C 0 7 H 7/033	
15/04		15/04	E
(72)発明者 森山 茂		(72)発明者 西川 正純	
茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会社中央研究所内		茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会社中央研究所内	
(72)発明者 玉井 忠和		F ターム (参考) 4C057 BB03 BB04 CC01 DD01 EE03	
茨城県つくば市和台16-2 マルハ株式会社中央研究所内		JJ09	
		4C086 AA01 AA02 EA01 MA01 MA04	
		NA14 ZA39 ZB11 ZC41	
		4C090 AA09 BA74 BB02 BB17 BB22	
		BB36 BB53 BB65 BB98 DA23	